

УДК 57.083.3

Магистрант Е. В. Плаксицкая

Науч. рук. доц. О. В. Остроух

(кафедра биотехнологии и биоэкологии, БГТУ)

ПРОИЗВОДСТВО НАБОРОВ РЕАГЕНТОВ НА ОСНОВЕ РАДИОАКТИВНЫХ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

На сегодняшний день разработано большое количество различных диагностических методов исследования, которые крайне важны для количественного определения биологически активных веществ в биологических жидкостях. Однако ни один из этих методов не превосходит по чувствительности, специфичности, точности и воспроизводимости методы РИА (радиоиммунологический) и ИРМА (иммунорадиометрический) анализов.

Диагностический набор на основе радиоактивных моноклональных антител предназначен для количественного определения антигена в сыворотке или плазме крови человека.

Антитела – белковые соединения плазмы крови, образующиеся в ответ на введение антигенов в организм человека [1]. Общая структура антител представлена на рисунке 1.

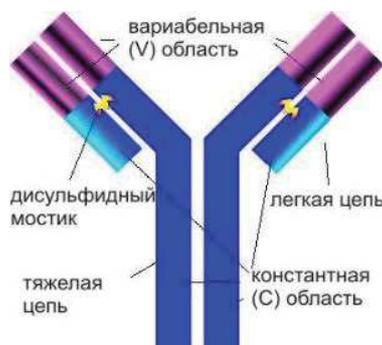


Рисунок 1 – Структура антител

Антиген – любое вещество, которое организм рассматривает как потенциально опасное и против которого организм обычно начинает вырабатывать собственные антитела.

Главными компонентами диагностического набора являются:

- 1) радиоактивомеченные моноклональные антитела;
- 2) калибровочные пробы и контрольные сыворотки;
- 3) твердофазное покрытие.

Нанесение твердофазного покрытия – сложный, трудоемкий и очень дорогостоящий процесс. Общая схема твердофазного покрытия представлена на рисунке 2.

В настоящее время нанесение твердофазного покрытия осуществляется в 5 стадий:

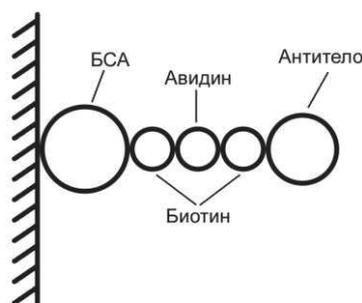


Рисунок 2 – Общая схема твердофазного покрытия

- 1) нанесение биотинилированного бычьего сывороточного альбумина (БСА) на поверхность пластмассовой пробирки;
- 2) нанесение авидина;
- 3) нанесение биотинилированных моноклональных антител;
- 4) нанесение постпокрытия;
- 5) аспирация и сушка.

Биотин – водорастворимый витамин группы В, структурная формула которого представлена на рисунке 3.

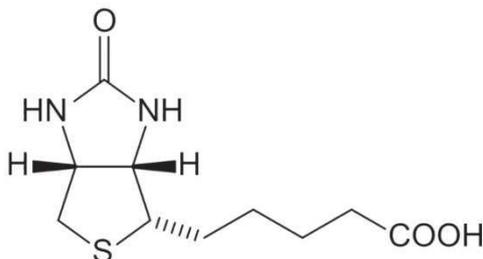


Рисунок 3 – Структурная формула биотина

Было доказано, что предварительная обработка антител заметно улучшает его связывание на пластмассовой поверхности. Задачей исследования является проведение экспериментальных работ по модификации конфигурации антитела путем кислотной обработки с участием HCl-глицин. Данная работа проводится для определения возможности уменьшения таким способом количества стадий изготовления твердофазного покрытия, количества используемых моноклональных антител, а, следовательно, и уменьшения себестоимости данного процесса.

Антитела в принципе обладают гидрофобными свойствами и поэтому хорошо связываются с пластиком. Некоторые белки сильно гликозилированы, и это дает поверхности высокую степень полярности. Предварительная обработка белков в условиях, характеризующихся

низким значением величины рН (рН 2-3), может увеличить гидрофобность, предположительно путем изменения конформации, в результате чего больше гидрофобных участков становятся доступными [2].

Процесс развития твердой фазы проходит в 2 этапа:

- 1) оптимизация параметров покрытия:
 - а) исследование антител;
 - б) исследование процесса активации антител перед покрытием;
 - в) исследование покрывающего буфера: рН, молярность, ионная сила;
 - г) концентрация антител в покрывающем растворе;
 - д) кинетика покрытия;
 - е) температура обработки;
- 2) оптимизация параметров постпокрытия:
 - а) добавление БСА;
 - б) ввод защитных добавок.

Основные параметры, которые будут варьироваться при проведении эксперимента по модификации конфигурации антитела путем кислотной обработки:

- 1) рН активирующего раствора: 2,0; 2,5; 3,0;
- 2) молярность буферного раствора HCl-глицин: 0,1 М и 1 М;
- 3) концентрация антител в активирующем растворе (мкг/мл): 100; 200; 500; 1000;
- 4) время активации антител (мин): 10; 20; 30.

При получении положительного результата появится возможность отказаться от такого дорогостоящего компонента, как авидин и внедрить данную технологию изготовления твердофазного покрытия в производство.

ЛИТЕРАТУРА

1. Википедия – свободная энциклопедия [Электронный ресурс]. – 2017. – Режим доступа: <https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BD%D1%82%D0%B8%D1%82%D0%B5%D0%BB%D0%B0>. – Дата доступа: 14.04.2017.
2. Wild, D.G. The Immunoassay Handbook / D.G. Wild. – USA: Elsevier Ltd, 2013. – 288 p.